

MINISTERIO DE INDUSTRIA Y ENERGIA
Registro de la Propiedad Industrial



ESPAÑA

Concedido el Registro de acuerdo con los datos que figuran en la presente descripción y según el contenido de la Memoria adjunta.

19 ES	11	NUMERO	10 A1
21			
22		FECHA DE PRESENTACION	
		14-5-79	

PATENTE DE INVENCION

20 PRIORIDADES:	32 FECHA	43 PAIS
31 NUMERO 905,667	15-5-78	Estados Unidos.
47 FECHA DE PUBLICIDAD	51 CLASIFICACION INTERNACIONAL C07D519/04 // A61K31/475	62 PATENTE DE LA QUE ES DIVISORIA
64 TITULO DE LA INVENCION UN NUEVO PROCEDIMIENTO PARA LA PREPARACION DE UN COMPUESTO VINCA DIMERO.		
71 SOLICITANTE (S) ELI LILLY AND COMPANY.		
DOMICILIO DEL SOLICITANTE 307 East McCarty Street, INDIANAPOLIS, INDIANA 42206. ESTADOS UNIDOS.		
72 INVENTOR (ES) Robert Allen Conrad y Koert Gerzon, ambos de nacionalidad estadounidense.		
73 TITULAR (ES)		
74 REPRESENTANTE D. BERNARDO UNGRIA GOIBURU.-		

1

Se ha hallado que varios alcaloides naturales que se obtienen de la Vinca rosea (Catharanthus roseus don. - Catharanthus o alcaloides de la Vinca) son activos en el

5

tratamiento de los tumores malignos experimentales en animales. Entre éstos se encuentran la leurosina (patente estadounidense n° 3.370.057), la vincaleucoblastina (vinblastina), a la que nos referiremos aquí como VLB (patente estadounidense n° 3.097.137), la leuroformina (patente belga

10

811,410), la leurosidina (vinrosidina) y la leurocristina (a la que nos referiremos en adelante como vincristina)

15

(ambas en la patente estadounidense n° 3.205.220), la desoxi-VLB "A" y "B", Tetrahedron Letters, 783 (1958); la 4-desacetoxivinblastina (patente estadounidense n° 3.954.773); la 4-desacetoxi-3'-hidroxivinblastina (patente estadounidense n° 3.944.554); la leurocolombina (patente estadounidense n° 3.890.325) y la vincadiolina (patente estadounidense n° 3.887.565). Dos de estos alcaloides, la VLB y la vincristina, son vendidos ahora como fármacos para el tratamiento de los tumores o enfermedades malignos, especialmente las leucemias y enfermedades similares en el hombre. Los dos alcaloides comerciales se administran habitualmente por vía intravenosa.

20

25

30

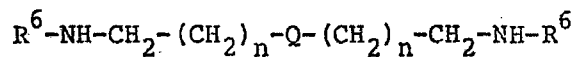
La modificación química de los alcaloides de la Vinca ha sido bastante limitada. En primer lugar, las estructuras moleculares implicadas son extraordinariamente complejas y es difícil poner a punto reacciones químicas que modifiquen un grupo funcional específico de la molécula sin afectar a los otros grupos. En segundo lugar, se han recuperado o producido a partir de fracciones o alcaloides de la Vinca rosea alcaloides dímeros que carecen de propiedades quimioterapéuticas interesantes y una determinación de sus estructuras

1 ha conducido a la conclusión de que estos compuestos están
estrechamente relacionados con los alcaloides activos, di-
firiendo frecuentemente solo en la estereoquímica de un
5 carbono individual. Por lo tanto, la actividad antineoplá-
sica parece estar limitada a estructuras básicas muy espe-
cíficas y las oportunidades de obtener fármacos más activos
por modificación de estas estructuras parecerían correspon-
dientemente escasas. Entre las modificaciones útiles de los
10 alcaloides fisiológicamente activos se encuentran la prepa-
ración de 6,7-dihidro-VLB (patente estadounidense número
3.352.868) y la sustitución del grupo acetilo en C-4 (car-
bono n° 4 del sistema cíclico de VLB - véase la estructura
numerada dada más adelante) por un grupo alcanóilo superior
15 o por grupos acilo no relacionados (véase la patente esta-
dounidense n° 3.392.173). Varios de estos derivados C-4 son
capaces de prolongar la vida de los ratones inoculados con
leucemia P1534. Uno de los derivados C-4 en el que un grupo
cloroacetilo sustituye al grupo acetilo C-4 de la VLB es
20 también un intermediario útil para la preparación de compues-
tos de VLB estructuralmente modificados en los que un grupo
N,N-dialquilglicilo sustituye al grupo acetilo C-4 de la VLB
(véase la patente estadounidense n° 3.387.001). También se
han preparado los carboxamido- y carboxhidrazido-derivados
25 C-3 de la VLB, vincristina, vincadiolina y otros compuestos
y se ha hallado que son agentes antitumorales activos (véase
la patente belga n° 813.168). Estos compuestos son extraor-
dinariamente interesantes porque, por ejemplo, las 3-carboxa-
midas de la VLB son más activas contra el sarcoma osteogéni-
co de Ridgeway y el linfosarcoma de Gardner que la propia
30 VLB, que es el alcaloide básico del que derivan. De hecho,

1 la actividad de algunos de estos amido-derivados es similar
a la de la vincristina contra estos tumores. En especial,
la carboxamida C-3 de la 4-desacetil-VLB (vindesina) está
siendo sometida actualmente a pruebas clínicas en el hombre,
5 donde parece presentar menos neurotoxicidad que la vincris-
tina y ser eficaz contra leucemias entre las que se encon-
tran las leucemias resistentes a la vincristina.

La patente belga n° 813.168 describe y reivindica
bis-vinca-dímeros puenteados que pueden ser representados
10 por la fórmula $R-NH-CH_2(CH_2)_n-S-S-CH_2-(CH_2)_n-NH-R$, donde R
es un resto de un vinca-alcaloide dímero que contiene un
grupo carbonilo C-3, con actividad oncolítica y n es 1-5.
Se ha hallado que los compuestos de esta estructura son el
producto principal de la reacción de una vinca-carboxazida
15 C-3 ($R-N_3$) y $NH_2-CH_2-CH_2-SH$ y se cree que son producidos
por la oxidación causada por el aire del grupo carboxamido-
etilmercaptano C-3, como en el sistema cisteína-cistina. Na-
turalmente, esta oxidación se limita a la formación de un
enlace disulfuro a partir de una mercaptoalquilamida y no
20 es generalmente aplicable a la síntesis de otros bis-dímeros
puenteados de Catharanthus.

Esta invención proporciona un procedimiento mejorado
para la preparación de ciertos tetrámeros de vinca descri-
tos y reivindicados en la patente belga n° 813.168. Este
procedimiento mejorado es un método de preparación de un
25 compuesto de fórmula:



donde cada grupo R^6 es el resto de un indol-dihidroindol-
alcaloide de fórmula:
30

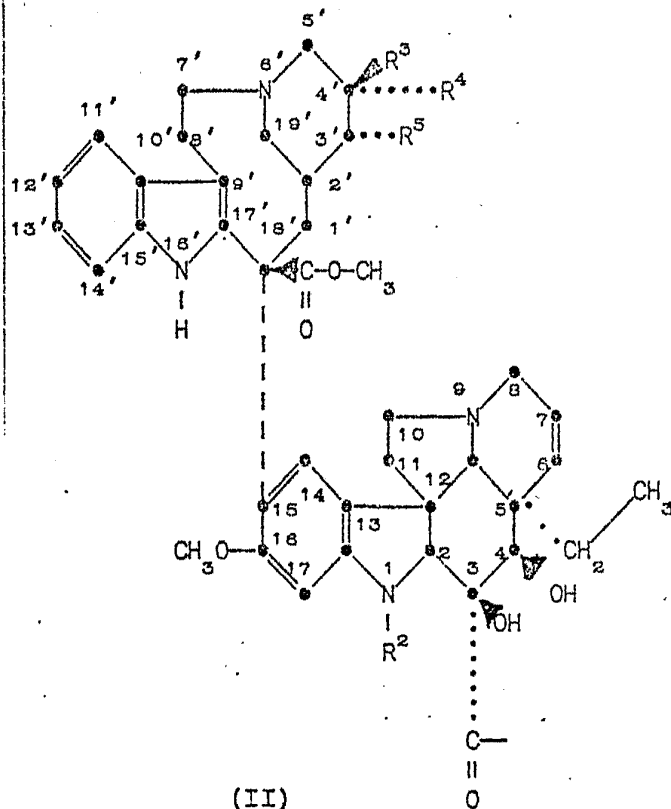
1

5

10

15

20



donde

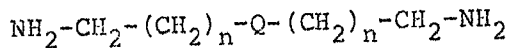
R^2 es CH_3 o H ;

tomados individualmente, uno de los grupos R^3 o R^4 es OH o H y el otro es C_2H_5 y R^5 es H y cuando R^4 y R^5 se toman unidos, forman un anillo α -epóxido y R^3 es C_2H_5 y

25

Q es $S-S$;

cuyo procedimiento se caracteriza por hacer reaccionar una azida de fórmula R^6-N_3 con una diamina de fórmula



30

donde Q es $S-S$, en una proporción de 2 moles de R^6-N_3 por

1 mol de diamina cuando Q es S-S.

Los ácidos no tóxicos útiles para formar sales de adición de ácidos farmacéuticamente aceptables de los compuestos de fórmula I son los ácidos inorgánicos como clorhídrico, nítrico, fosfórico, sulfúrico, bromhídrico, yodhídrico, nitroso y fosforoso así como los ácidos orgánicos no tóxicos como los ácidos alifáticos monocarboxílicos y dicarboxílicos, ácidos fenilalcanoicos, ácidos hidroxialcanoicos e hidroxialcanodioicos, ácidos aromáticos y ácidos sulfónicos aromáticos y alifáticos. Por lo tanto, estas sales farmacéuticamente aceptables incluyen, por ejemplo, los sulfatos, piro-sulfatos, bisulfatos, sulfitos, bisulfitos, nitratos, fosfatos, monohidrógeno-fosfatos, dihidrógeno-fosfatos, metafosfatos, pirofosfatos, cloruros, bromuros, yoduros, acetatos, propionatos, decanoatos, caprilatos, acilatos, formiatos, isobutiratos, capratos, heptanoatos, propionatos, oxalatos, malonatos, succinatos, suberatos, sebacatos, fumaratos, maleatos, benzoatos, clorobenzoatos, metilbenzoatos, dinitrobenzoatos, hidroxibenzoatos, metoxibenzoatos, ftalatos, tereftalatos, bencenosulfonatos, toluensulfonatos, clorobencenosulfonatos, xilensulfonatos, fenilacetatos, fenilpropionatos, fenilbutiratos, citratos, lactatos, 2-hidroxibutiratos, glicolatos, malatos, tartratos, metanosulfonatos, propanosulfonatos, naftalen-1-sulfonatos y naftalen-2-sulfonatos.

La primera etapa en la preparación de los compuestos de fórmula II se realiza mezclando la azida, R^6-N_3 , en un disolvente inerte adecuado, habitualmente dicloruro de metileno, con la diamina o triamina $NH_2-CH_2-(CH_2)_n-Q-(CH_2)_n-CH_2-NH_2$, donde Q tiene el significado dado anteriormente,

1 en una proporción de 2 moles de azida por mol de diamina
o 3 moles de azida por mol de triamina. La diamina o tri-
amina también se disuelve en un disolvente inerte, habitual-
mente dicloruro de metileno, antes de la adición. Como se
5 indica más adelante, como normalmente la azida no se puri-
fica sino que se utiliza tal como es aislada de la mezcla
de reacción, es conveniente emplear para la reacción con
la diamina o triamina el disolvente en el que ha sido aisla-
da. La bis- o tris-vinca-amida así producida se aísla por
10 técnicas habituales y se purifica por cromatografía.

Empleando VLB como ejemplo del procedimiento de síntesis,
se hace reaccionar VLB con hidrazina anhidra en un
disolvente inerte frente a ambos reactivos, tal como un
alcohol inferior, en una vasija de reacción herméticamente
15 cerrada. Habitualmente la mezcla de reacción se calienta a
40-100°C durante periodos de 12 a 48 horas, durante las
cuales la reacción es prácticamente completa. El producto
de la reacción es la carboxhidrazida C-3 de la 4-desacetil-
VLB, ya que la reacción de la hidrazina no solamente sirve
20 para convertir el grupo éster C-3 en un grupo hidrazido
sino también, en las condiciones básicas de reacción, sir-
ve para hidrolizar el acetilo C-4 y formar un grupo hidro-
xilo. Otros grupos éster de la molécula no son afectados
por las condiciones de reacción anteriores, a excepción de
25 que normalmente se produce una cierta cantidad del 18'-des-
carbometoxi-derivado. Sin embargo, el producto principal
de la reacción es la carboxhidrazida C-3 de 4-desacetil-
VLB. Los 4-desacetil-C-3 carboxhidrazido-derivados de desoxi-
VLB "A" y "B", de leurosidina y leurosina se producen de
30 forma similar. Las carboxhidrazidas así producidas se con-

1 vierten a continuación en las correspondientes azidas por
tratamiento con nitrito sódico en un ácido. El producto de
esta reacción se utiliza normalmente tal como se aísla de
la mezcla de reacción, ya que se ha encontrado que no es ne-
5 cesario purificar la azida para obtener rendimientos adecua-
dos de la bis-amida deseada.

La reacción de 2 moles de 4-desacetil-C-3 carboxazidas
de VLB, leurosídina, desoxi-VLB "A" y "B", leurosina y otros
alcaloides de estructura R^6-OCH_3 , donde R^6 está representa-
10 do por la fórmula II (con la excepción de que R^2 es CH_3 o
H solamente), con la diamina $NH_2-CH_2-(CH_2)_n-Q-(CH_2)_n-CH_2-NH_2$,
donde Q es el definido anteriormente excepto el agrupamien-
to $N-(CH_2)_m-CH_2-NH_2$, en las condiciones habituales de reac-
ción azida-amina de la patente belga n° 813.168 para la pre-
15 paración de monoamidas de los mismos vinca-alcaloides, da
los productos deseados $R^6-NH-CH_2-(CH_2)_n-Q-(CH_2)_n-CH_2-NH-R^6$,
que incluyen los productos de esta invención de fórmula
 $R-NH-CH_2-(CH_2)_n-X-CH_2-(CH_2)_n-NH-R$, donde R es el definido
por la fórmula I donde R^1 es OH, R^2 es CH_3 y X es el defi-
20 nido anteriormente excepto el agrupamiento $N-\{(CH_2)_m-CH_2-NH-$
 $R\}$, y los productos donde R^2 es H siendo los demás grupos
igual, que deben ser formilados (R^2 es CHO) para formar
un agente oncolítico de esta invención.

25 Cuando se emplea como reactivo una tetramina NH_2-CH_2-
 $(CH_2)_n-Q-(CH_2)_n-CH_2-NH_2$ donde Q es $N-\{(CH_2)_m-CH_2-NH_2\}$, se
utilizan 3 moles de azida por mol de tetramina y el produc-
to final es una tri-amida de estructura $\{R^6-NH-CH_2-(CH_2)_n\}_2-$
 $N-(CH_2)_m-CH_2-NH-R^6$.

30 La reacción de la vincristina, leuroformina u otros
alcaloides representados por R^6-OCH_3 , donde R^2 es CHO, con

1 hidrazina produce no solamente la hidrólisis del acetoxi
C-4 para formar un grupo hidroxilo C-4 sino también
la desformilación en N-1. El producto de esta reacción,
carboxhidrazida C-3 de 1-desformil-4-desacetil-vincristina
5 por ejemplo, puede ser transformado en la azida y pueden
hacerse reaccionar 2 o 3 moles de la azida con 1 mol de
 $\text{NH}_2\text{-CH}_2\text{-(CH}_2)_n\text{-Q-(CH}_2)_n\text{-CH}_2\text{-NH}_2$, donde Q y n tienen el sig-
nificado dado anteriormente, para formar un compuesto de
fórmula $\text{R}^6\text{-NH-CH}_2\text{-(CH}_2)_n\text{-Q-(CH}_2)_n\text{-CH}_2\text{-NH-R}^6$, donde R^6 tie-
10 ne el significado dado anteriormente con la excepción de
que R^2 es H solamente. Este compuesto debe ser después re-
formilado por procedimientos habituales para formar el com-
puesto de esta invención, $\text{R}^6\text{-NH-CH}_2\text{-(CH}_2)_n\text{-Q-(CH}_2)_n\text{-CH}_2\text{-NH-}$
 R^6 donde R^2 es CHO.

15 Alternativamente, los compuestos de esta invención
donde R^2 (en R^6) es CHO pueden ser preparados por oxidación
a baja temperatura (-60°C) del correspondiente compuesto
donde R^2 es CH_3 con CrO_3 en ácido acético y acetona. Las
bis-amidas que contienen un grupo oxidable (por ejemplo
20 -S-, -S-S-, -Se-Se-) no son substratos adecuados para este
procedimiento y deben prepararse por el método del párrafo
anterior.

Los compuestos de fórmula I donde R representa dos
radicales diferentes se preparan como sigue: se hace reac-
25 cionar un mol de la azida $\text{R}^6\text{-N}_3$ con un mol de la diamina
 $\text{NH}_2\text{-CH}_2\text{-(CH}_2)_n\text{-Q-(CH}_2)_n\text{-CH}_2\text{-NH}_2$ para dar una semi-amida,
 $\text{R}^6\text{-NH-CH}_2\text{-(CH}_2)_n\text{-Q-(CH}_2)_n\text{-CH}_2\text{-NH}_2$.

Los materiales de partida útiles en este procedimien-
to de síntesis se preparan de acuerdo con los siguientes
30 métodos.

Preparación de los materiales de partida

Carboxhidrazida C-3 de 4-desacetil-VLB

1
5
10
15
20
25

En una vasija de reacción herméticamente cerrada, se calienta a unos 60°C, durante 18 horas aproximadamente, la VLB en etanol anhidro con un exceso de hidrazina anhidra. Se enfría la vasija de reacción, se abre, se saca su contenido y los constituyentes volátiles se evaporan a vacío. El residuo resultante, que contiene la carboxhidrazida C-3 de 4-desacetil-VLB, se recoge en dicloruro de metileno, la solución en dicloruro de metileno se lava con agua, se separa y se seca y se elimina el dicloruro de metileno por evaporación a vacío. El residuo resultante se disuelve en una mezcla disolvente de cloroformo/benceno 1:1 y se cromatografía sobre gel de sílice. Para desarrollar el cromatograma se emplea como eluyente una mezcla de benceno/cloroformo/trietilamina. Las fracciones cromatográficas iniciales contienen los materiales de partida que no han reaccionado más la 4-desacetil-VLB producida como subproducto de reacción. Se halla que otras fracciones contienen la carboxhidrazida C-3 de 4-desacetil-18'-descarbometoxi-VLB anteriormente descrita por Neuss y colaboradores, Tetrahedron Letters, 1968, 783. Por cromatografía en capa fina se halla que las fracciones sucesivas contienen la carboxhidrazida C-3 de la 4-desacetil-VLB y estas fracciones se combinan y se evaporan los disolventes a vacío. El sólido resultante funde a unos 219-220°C con descomposición.

30

Si siguiendo el procedimiento anterior, la 4-desacetil-VLB también puede hacerse reaccionar con hidrazina para formar carboxhidrazida C-3 de 4-desacetil-VLB y la leurocristina o la 4-desacetil-leurocristina (que se obtienen por el méto-

1 do de la patente estadounidense 3.392.173 de Hargrove), pueden hacerse reaccionar con hidrazina anhidra en etanol anhidro para formar la carboxihidrazida C-3 de 4-desacetil-1-desformil-leurocristina que se aísla en forma de polvo amorfo.
5 Las 4-desacetil-C-3 carboxihidrazidas de las desoxi-VLB, de la leurosidina y de la leurosina se preparan de forma análoga.

Carboxazida C-3 de 4-desacetil-VLB

10 Se prepara una solución de 678 mg de carboxihidrazida C-3 de 4-desacetil-VLB en 15 ml de metanol anhidro. Se añaden alrededor de 50 ml de ácido clorhídrico acuoso 1N y la solución resultante se enfría a unos 0°C. Después se agregan alrededor de 140 mg de nitrito sódico y la mezcla de reacción resultante se agita durante 10 minutos mientras se
15 mantiene la temperatura alrededor de 0°C. Por adición de nitrito sódico la solución adquiere un color marrón rojizo oscuro. A continuación la mezcla de reacción se basifica por adición de un exceso de una solución acuosa fría de bicarbonato sódico al 5 %. La solución acuosa se extrae tres
20 veces con dicloruro de metileno. La carboxazida C-3 de 4-desacetil-VLB formada en la reacción anterior pasa al dicloruro de metileno cuya capa se separa. La solución en dicloruro de metileno de la carboxazida C-3 de 4-desacetil-vinblastina así obtenida se utiliza habitualmente sin purificarla más.
25

Las 4-desacetil-carboxazidas C-3 de 1-desformilvincristina, leurosidina, 4'-desoxi-VLB "A" y "B" y leurosina se preparan de forma análoga.

30 Esta invención es ilustrada además mediante los siguientes ejemplos específicos.

EJEMPLO 1

Preparación de disulfuro de bis{ β -(4-desacetil-VLB-C-3 carboxamido)etilo}

Se hacen reaccionar 80 g de carboxhidrazida C-3 de 4-desacetil-VLB en ácido clorhídrico acuoso con nitrito sódico para formar la carboxazida C-3 de 4-desacetil-VLB. La azida producida en la reacción se aísla en forma de solución en 400 ml de dicloruro de metileno.

Se agregan 22,5 g de dihidrocloruro de cistamina a 500 ml de metanol que contiene disueltos 10,8 g de metóxido sódico. La mezcla de reacción se agita durante unas 4 horas, después de las cuales se separa el disolvente por evaporación. El residuo se agita con éter durante una hora aproximadamente y después se filtra. El filtrado etéreo se evapora a sequedad a vacío, dando alrededor de 10 g de la cistamina en forma de base libre, como residuo oleoso.

Se agregan 760 mg de la base libre de cistamina en dicloruro de metileno a la solución de carboxazida C-3 de 4-desacetil-VLB en dicloruro de metileno. Se añaden 75 ml de tetrahidrofurano y la mezcla de reacción se agita en la oscuridad durante unas 16 horas a la temperatura ambiente. Después se filtra la mezcla de reacción y el filtrado se evapora a sequedad a vacío. El residuo resultante que contiene disulfuro de bis{ β -(4-desacetil-VLB-C-3 carboxamido)etilo} se disuelve en dicloruro de metileno. La solución en dicloruro de metileno se lava con agua y después se seca. Por evaporación del dicloruro de metileno se obtiene un residuo que por cromatografía en capa fina (dicloruro de metileno/metanol/acetato de etilo 1:1:1) se demuestra que contiene dos productos principales. Después el residuo

1 se cromatografía sobre sílice empleando como eluyente el mis-
mo sistema disolvente. Se combinan las fracciones para las
que se demuestra por cromatografía en capa fina que contie-
nen disulfuro de bis(β -(4-desacetil-VLB-C-3 carboxamido)etilo)
5 } y se evaporan los disolventes. El otro producto princi-
pal de la reacción se separa también y se purifica, demos-
trándose que es el producto de reacción de un mol de carbo-
xazida-C-3 de 4-desacetil-VLB y cistamina, es decir, N-2-(2-
aminoetiltio)etilcarboxamida C-3 de 4-desacetil-VLB. Se obtie-
10 nen rendimientos mayores de este producto 1:1 si se hace
reaccionar un mol de azida con un mol de cistamina. El disul-
furo de bis(β -(4-desacetil-VLB-C-3 carboxamido)etilo) así
preparado es idéntico al obtenido por el procedimiento des-
crito en la patente belga n° 813.168.

15 El disulfato del disulfuro de bis(β -(4-desacetil-VLB-
C-3 carboxamido)etilo) se prepara en etanol por adición
estéquiométrica de ácido sulfúrico etanólico al 2 % en vo-
lumen. El disulfato también se prepara por valoración de
una solución de la base con un 2 % de ácido sulfúrico etanó-
20 lico hasta el punto en que una parte alícuota de la solución
diluida con 5 volúmenes de agua presenta un pH comprendido
entre 3,0 y 3,5. Por cualquier método de preparación se obtie-
ne una sal amorfa blanquecina después de evaporar el etanol.

PARTE A

25 Siguiendo el procedimiento anterior, se hace reaccionar
carboxazida C-3 de 4-desacetil-VLB con disulfuro de bis(γ -
amino)propilo para dar disulfuro de bis(γ -(4-desacetil-VLB-
C-3 carboxamido)propilo), con las siguientes característi-
cas físicas:

30 Análisis elemental: azufre calculado 3,72; encontrado

1 3,87.

Espectro de masas, m/e: 841,855.

Valoración (DMF al 66 %): pK_a 5,20, 7,21.

Espectro infrarrojo, ν (CHCl₃): 1730 y 1670 cm⁻¹.

5 RMN ¹³C: igual que para la vindesina a excepción de una amida secundaria a 173,7 y picos extra a 42,0, 36,0 y 39,2.

PARTE B

10 Siguiendo el procedimiento anterior, se hace reaccionar carboxazida C-3 de 4-desacetil-leurosina con cistamina en una relación molar de 2:1 para formar disulfuro de bis { β -(4-desacetil-leurosina-C-3 carboxamido)etil}, con las siguientes características físicas:

15 Espectro de masas, m/e: 825.

Espectro infrarrojo, ν (CHCl₃): 1730 y 1670 cm⁻¹.

Valoración (DMF al 66 %): pK_a 5,3 y 7,0.

Peso molecular osmótico = 1479 (calculado: 1620).

20 RMN ¹³C: similar al de la vindesina con amida a 173,7 (secundaria) y resonancias extra a 39,2 y 37,5 ppm.

EJEMPLO 2

Preparación de sales

25 Los sulfatos de las amidas anteriores se preparan disolviendo la amida determinada en etanol absoluto y ajustando el pH de la solución resultante a 3,0-3,5 aproximadamente con ácido sulfúrico etanólico al 2 %. Otras sales, como las sales con iones inorgánicos como cloruro, bromuro, fosfato, nitrato y similares así como las sales con iones orgánicos como benzoato, metanosulfonato, maleato, tartrato y similares, se preparan de forma análoga.

30 Los compuestos de fórmula II y los que pueden prepa-

1 rarse por el procedimiento aquí descrito son activos in vivo
contra los tumores transplantados en ratones. Para poner de
manifiesto esta actividad de los fármacos de fórmula II, se
5 utilizó un protocolo que implicaba la administración del
fármaco, habitualmente por vía intraperitoneal, a dosis se-
leccionadas, todos los días durante 9-10 días o cada cuarto
día, después de la inoculación con el tumor.

10 La siguiente Tabla I contiene los resultados de los
experimentos en los que unos ratones con linfosarcoma de
Gardner (LSG), tumor de mama C₃H, melanoma B16, leucemia
P1534 (J), leucemia P388 o adenocarcinoma 755, fueron tra-
tados con un compuesto de fórmula II. En la tabla, la colum-
na 1 contiene el nombre del compuesto; la columna 2, el sis-
15 tema de tumor empleado; la columna 3, el programa de dosifi-
cación y la columna 4, el porcentaje de inhibición del cre-
cimiento del tumor o la mayor duración de vida.

20 Cuando se utilizan los nuevos compuestos de fórmula II
como agentes antitumorales en mamíferos, se emplea conve-
nientemente la vía parenteral de administración. Dentro de
la administración parenteral, se prefiere la vía intravenosa
aunque con los mamíferos más pequeños, como los ratones,
puede utilizarse la vía intraperitoneal. Para la administra-
ción intravenosa, se emplean soluciones isotónicas que con-
25 tienen 1-10 mg/ml de una sal de una base alcaloidea de fór-
mula II. Los compuestos se administran en una proporción
de 0,01 a 1 mg/kg y preferiblemente de 0,1 a 1 mg/kg de pe-
so corporal del mamífero, una o dos veces a la semana o ca-
da dos semanas, según la actividad y la toxicidad del fár-
maco. Otro método posible para establecer la dosis terapéuti-
ca se basa en la superficie corporal, con una dosis de 0,1
30

1 a 10 mg/m² de superficie corporal del mamífero cada 7 o 17 días.

TABLA I

5	Nombre del compuesto	Tumor	mg/kg x n° de días	Porcentaje de inhibición o prolongación del tiempo de supervivencia
	disulfato de disulfuro de bis(β-(4-desacetil-leuro sin-C-3 carboxamido)etilo)	P388	30 x 3	55
			15 x 3	46
	disulfato de disulfuro de bis(β-(4-desacetil-VLB-C-3 carboxamido)etilo)	LSG	0,4 x 9	43-100
10			1,2 x 3	62-93
			0,9 x 3	34-46
		C ₃ H	1,2 x 3	tóxico
			0,9 x 3	31-36
	disulfato de disulfuro de bis(β-desacetil-VLB-C-3 carboxamido)etilo)	P388	1,2 x 3	53-61
15			0,9 x 3	39-47
			0,6 x 3	33-44
		755	1,6 x 3	60
			1,2 x 3	67-68
			0,9 x 3	34-54
			0,6 x 3	29-34
20		P1534(J)	1,6 x 3	90-99
			1,2 x 3	62 o tóxico
			0,9 x 3	50-53
			0,6 x 3	20-39
25		B16	0,6 x 3	118(7)*
			0,9 x 3	86(7)
			1,2 x 3	24(3)

30

1

TABLE I (continuación)

5

<u>Nombre del compuesto</u>	<u>Tumor</u>	<u>mg/kg x n° de días</u>	<u>Porcentaje de inhibición o prolongación del tiempo de supervivencia</u>
disulfato de disulfuro	B16	0,6 x 3	99 (8)
de bis{γ-(4-desacetil- VLB-C-3 carboxamido) propilo}		0,9 x 3	61 (5)
		1,2 x 3	68 (8)

* Número de supervivientes indefinidos entre paréntesis.

10

Quando se utiliza un compuesto de fórmula II clínicamente, el médico clínico debe administrar inicialmente el compuesto por la misma vía y en el mismo vehículo y probablemente contra los mismos tipos de tumores que los indicados para la vincristina o la VLB. Los niveles de dosificación empleados deben reflejar la diferencia en los niveles de dosificación hallados en el tratamiento de los tumores experimentales en ratones, siendo en general los niveles de dosificación de los compuestos de fórmula II comparables a los utilizados con la vincristina y la VLB en los tumores sensibles a uno de estos fármacos o a ambos. En las pruebas clínicas, como ocurre con otros agentes anti-tumorales, debe prestarse atención especial al efecto de los compuestos oncolíticos de fórmula II sobre los diez tumores "señal" indicados en la página 266 de la obra "The Design of Clinical Trials in Cancer Therapy", editada por Staquet (Futura Publishing Company, 1973).

15

20

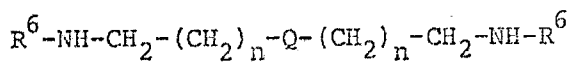
25

30

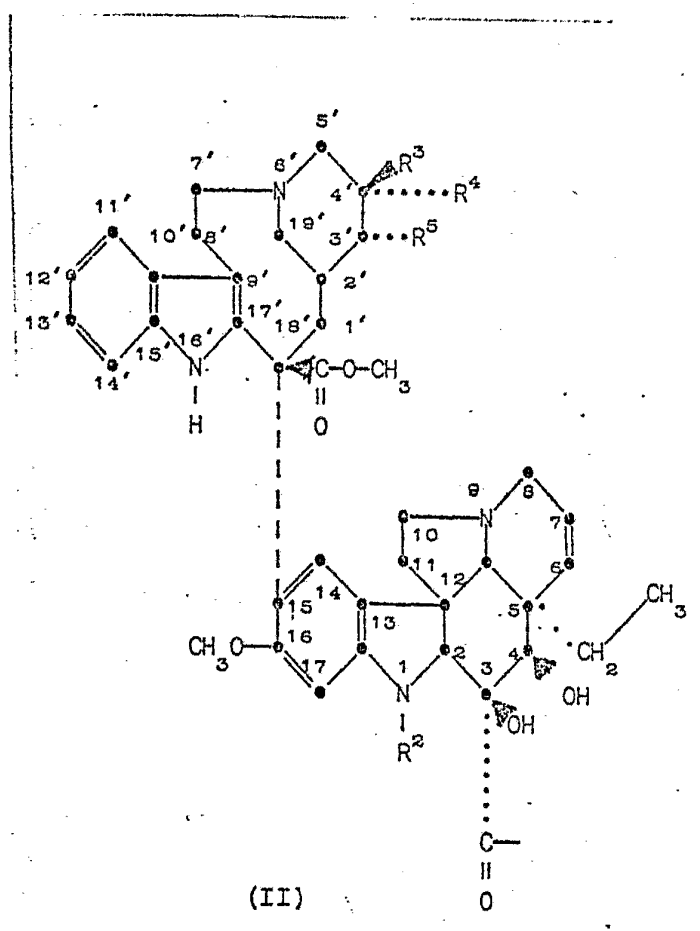
En resumen, la Patente de Invención que se solicita deberá recaer sobre las siguientes:

REIVINDICACIONES:

1. Un nuevo procedimiento para la preparación de un compuesto vincadimero de fórmula:



donde cada radical R^6 es el resto de un indol-hidroindol-alcaloide de fórmula:



donde

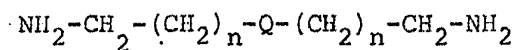
R^2 es CH_3 o H ;

tomados individualmente, uno de los radicales R^3 o R^4 es OH o H y el otro es C_2H_5 y R^5 es H y cuando R^4 y R^5 se toman unidos, forman un anillo α -epóxido y R^3 es C_2H_5 ;

1

Q es S-S;

cuyo procedimiento se caracteriza por hacer reaccionar una azida de fórmula R^6-N_3 con una diamina de fórmula



5

donde Q es S-S, en una proporción de 2 moles de R^6-N_3 por mol de diamina cuando Q es S-S.

2. Se reivindica por último como objeto sobre el que ha de recaer la Patente de Invención que se solicita:
UN NUEVO PROCEDIMIENTO PARA LA PREPARACION DE UN COMPUESTO
VINCADIMERO.

10

Todo conforme queda descrito y reivindicado en la presente memoria descriptiva que consta de diecinueve páginas mecanografiadas.

15

Madrid, 14 mayo 1.979

BERNARDO UNGRIA

20

25

30